



Conservação de germoplasma de mamíferos silvestres da fauna brasileira visando a implantação de biobancos

Conservation of germplasm from Brazilian wildlife aiming the biobank formation

Alexandre Rodrigues Silva^{1,‡}, Andreia Maria Silva¹, Alessandra Fernandes Pereira²

¹Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN.

²Laboratório de Biotecnologia Animal, Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró, RN, Brasil.

Resumo

Considerando as dimensões continentais do Brasil, sua ampla variedade de biomas se reflete em uma imensa diversidade faunística. Embora as políticas públicas para a conservação da fauna nacional sejam ainda incipientes, esforços pontuais de alguns pesquisadores têm contribuído para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida (TRAs) em algumas espécies. Nesta revisão, estão compilados os estudos desenvolvidos pela equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal (LCGA), da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) quanto ao desenvolvimento de estratégias para a conservação de material genético de mamíferos silvestres da fauna brasileira, no desenvolvimento de estratégias para a conservação de material genético de animais silvestres, utilizando um modelo ungulado e um roedor histricognato pertencentes à fauna brasileira. Destaque-se que neste documento foram descritos os principais resultados relacionados à conservação de espermatozoides, bem como do tecido gonadal de machos e fêmeas das espécies referidas.

Palavras-chave: biodiversidade, sêmen, tecido gonadal, vida selvagem.

Abstract

Due to continental dimensions of Brazil, its wide variety of biomes is reflected in an immense diversity of fauna. Although public policies for the conservation of the national fauna are still incipient, specific efforts by some researchers have contributed to the development of assisted reproductive techniques for some species. This review compiles the studies developed by the Laboratory of the Conservation of Animal Germplasm (LCGA), of the Federal Rural Semi-Arid Federal University (UFERSA) on the development of strategies for the conservation of genetic material of wild mammals of Brazilian fauna, by using a ungulate and a hystricognath rodent that belong to the Brazilian Fauna. Results regarding the conservation of their spermatozoa and gonadal tissues are here demonstrated.

Keywords: biodiversity, semen, gonadal tissues, wildlife.

Introdução

No sentido de salvaguardar sua biodiversidade, o Brasil é signatário da Convenção sobre a Diversidade Biológica (CDB), assinada durante a Rio-92 e estabelecida pela Organização das Nações Unidas. Em seu art. 15, a CDB determina em âmbito mundial, as obrigações vinculadas ao acesso aos recursos genéticos que compõem a diversidade biológica, constituindo a principal normativa internacional sobre a formação dos chamados bancos de germoplasma (Bertoldi, 2005). Neste sentido, é imprescindível a sensibilização do governo brasileiro quanto à promoção de políticas públicas visando à formação de redes nacionais envolvendo instituições públicas e privadas no sentido de salvaguardar o germoplasma da fauna nacional.

No momento, apenas no Jardim Zoológico de Brasília existe desde 2010, um Banco de Germoplasma de Animais Selvagens em parceria com a EMBRAPA/CENARGEN, sendo considerado o primeiro oficial da América Latina. Por outro lado, nas instituições de pesquisa, em especial nas universidades, têm sido grandes os esforços de inúmeros pesquisadores em fomentar o desenvolvimento de protocolos para a conservação de germoplasma de animais silvestres. Assim, esta revisão compila estudos empreendidos pela equipe do Laboratório de Conservação de Germoplasma Animal (LCGA), da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) no desenvolvimento de estratégias para a conservação de material genético de mamíferos silvestres, utilizando um modelo ungulado (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) e um roedor histricognato (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1758) pertencentes à fauna brasileira.

[‡]Correspondência: alexrs@ufersa.edu.br

Recebido: 11 de dezembro de 2018

Aceito: 4 de março de 2019



Catetos (*Pecari tajacu*)

Os catetos são um tipo de “porco-selvagem” que se encontra espalhado pelas Américas, porém ameaçados em alguns biomas como a Caatinga e Mata Atlântica (Gongorra et al., 2013). Para essa espécie, era de se esperar que a tecnologia desenvolvida para o suíno, espécie doméstica filogeneticamente mais próxima, fosse possível adaptar os protocolos para a conservação de seus gametas masculinos; contudo, as pesquisas realizadas pelo LCGA/UFERSA têm mostrando um caminho diferente desde a primeira congelação do sêmen desta espécie (Castelo et al., 2010). Embora os autores tenham utilizado a curva de congelação de sêmen para suínos, testes preliminares com o diluente de Beltsville (BTS) não mostraram efeito favorável à sobrevivência espermática dos catetos, sendo necessária a adoção de diluentes à base de Tris, acrescido de frutose ou glicose, associado à descongelação a 37°C/1 min. Posteriormente, foi realizada por Alves et al. (2012) a adequação das concentrações dos crioprotetores gema de ovo (10%) e glicerol (3%). Recentemente, inclusive, demonstrou-se que a gema de ovo poderia ser eficientemente substituída pela lipoproteína de baixa densidade (LDL a 20%; Souza et al., 2015) ou pelo extrato bruto de *Aloe vera* (20%; Souza et al., 2016).

Em 2013, Silva et al., além de demonstrarem que uma curva rápida similar a dos carnívoros poderia ser adotada para a congelação de sêmen dos catetos, também comprovaram a eficiência de um diluente à base de água de coco em pó (ACP®). Contudo, recentemente, Bezerra et al. (2018) observaram que a origem dos espermatozoides poderia influenciar na eficiência do protocolo de criopreservação, uma vez que gametas oriundos de epidídimos de catetos não foram adequadamente congelados em ACP®, mas apenas em diluentes a base de Tris.

Atualmente, o maior desafio relativo à congelação do sêmen de catetos, diz respeito à manutenção de sua longevidade espermática pós-descongelação. Embora obtenha-se em torno de 50% de espermatozoides móveis após descongelação, a qualidade espermática sofre uma redução drástica após 15 min (Campos et al., 2014). Recentemente, entretanto, Freitas et al. (2017) demonstraram que a adição de Equex STM®, um detergente à base de dodecil sulfato de sódio, promoveu um incremento significativo da viabilidade espermática por um período entre 30 e 120 min. Além disso, para aprimorar os protocolos, pesquisas no intuito de melhor conhecer a proteômica (Santos et al., 2014) e os componentes bioquímicos (Silva et al., 2018a) do plasma seminal, bem como o efeito da sazonalidade sobre as características espermáticas e a congelabilidade (Maia et al., 2018) seminal na espécie, têm sido desenvolvidas.

Ainda, no sentido de salvaguardar o germoplasma masculino de catetos, Borges et al. (2015) demonstraram a utilização de um protocolo de vitrificação em superfície sólida (VSS) do tecido testicular, comprovando a eficiência do etilenoglicol (EG) em conservar adequadamente as células germinativas. Recentemente, Silva et al. (2017) demonstraram que a morfologia, a viabilidade e a capacidade proliferativa do tecido testicular de catetos poderia ser eficientemente conservada através da vitrificação utilizando-se tanto o EG ou o dimetilsulfóxido (DMSO), como crioprotetores na concentração de 3,0 M.

Ressalta-se que, paralelamente aos estudos sobre conservação do germoplasma masculino, têm sido conduzidas estratégias para sua utilização, através do monitoramento (Maia et al., 2014a) e controle (Maia et al., 2014b) do ciclo estral das fêmeas, e do desenvolvimento da inseminação artificial (Peixoto et al., 2017).

Em relação às fêmeas, os folículos ovarianos guardam grandes semelhanças aos das fêmeas suínas, no tocante às dimensões e conteúdo lipídico intra-ocitário (Lima et al., 2013a). Assim, a VSS do tecido ovariano utilizando DMSO ou EG 3,0 M como crioprotetores possibilita a recuperação de até 70% de folículos morfolologicamente normais e viáveis a partir de ovários de catetos. Recentemente, Campos et al. (2016) demonstraram que folículos ovarianos poderiam ser também conservados no dispositivo “ovarian tissue cryosystem – OTC” para vitrificação, utilizando os mesmos crioprotetores, mencionados acima. Em adição, tem sido implementado um sistema de cultivo in vitro por 7 dias, para os folículos ovarianos de catetos, no qual o uso do TCM 199 suplementado com o hormônio folículo estimulante (FSH) oferece condições adequadas para a manutenção da morfologia folicular, da capacidade proliferativa das células da granulosa e da matriz extracelular (Lima et al., 2018). No momento, o efeito de outras substâncias, como o Fator de Diferenciação e Crescimento - 9 GDF-9 e a Proteína Morfogenética Óssea (BMP-15), está sendo verificado.

Cutias (*Dasyprocta leporina*)

O termo cutia compreende um grupo de 13 diferentes espécies de roedores histricognatos do gênero *Dasyprocta* (Emmons e Feer, 1997). Destes, a *D. leporina*, largamente encontrada no Brasil, tem servido de modelo para o desenvolvimento de técnicas de reprodução assistida objetivando a conservação de espécies ameaçadas como a *D. ruantânica*.

Considerando a dificuldade de obtenção de amostras de sêmen por eletroejaculação nesta espécie, o desenvolvimento de protocolos tecnológicos iniciou-se a partir de espermatozoides resgatados de seus epidídimos. Silva et al. (2012) demonstraram que tais gametas poderiam ser criopreservados em diluente ACP®, envazados em palhetas de 0,25 ou 0,50 mL, e descongelados a 37°C por 60 s. Castelo et al. (2015) comprovaram a eficiência do glicerol a 6 % em relação ao DMSO e à dimetilformamida (DMF) na mesma concentração, principalmente na conservação da capacidade de ligação espermática e manutenção da integridade de sua cromatina após



descongelamento. Com o aperfeiçoamento da eletroejaculação (Castelo et al., 2016), iniciaram-se tentativas de criopreservação de ejaculados, nas quais demonstrou-se que os protocolos já desenvolvidos para espermatozoides epididimários de cutias poderiam ser diretamente extrapolados para aqueles obtidos por eletroejaculação, obtendo-se valores médios de motilidade pós descongelamento de 25% (Castelo, 2015).

Quanto às fêmeas, um estudo inicial realizado em 2012 por Wanderley et al. evidenciou que o método convencional de congelamento (congelamento lento) para tecido ovariano utilizando o propanodiol a 1,5 M como crioprotetor, promoveu conservação da ultraestrutura dos folículos preantrais de cutias. Posteriormente, Praxedes (2017) demonstrou a eficiência da VSS com diferentes crioprotetores (DMSO 3,0 M ou 6,0 M, EG 3,0 M ou 6,0 M, e suas combinações) para a conservação da morfologia e viabilidade folicular ovariana. Recentemente, Praxedes et al. (2018) também comprovaram a eficiência da VSS ao demonstrar que o tecido ovariano de cutias, após vitrificação, quando xenotransplantado para camundongos fêmeas, severamente imunodeprimidas (SCID) e ovariectomizadas, foi capaz de reativar sua função, induzindo a manifestação estral e ovulação nas receptoras ovariectomizadas.

Paralelamente, metodologias para o monitoramento (Campos et al., 2015) e controle do ciclo estral (Peixoto et al., 2018) de cutias já foram implementadas, no intuito de se estabelecer, futuramente, um protocolo de inseminação artificial, viável para a espécie. Além disso, estudos relativos ao desenvolvimento de um sistema de cultivo *in vitro* para o tecido ovariano já foram também iniciados.

Considerações Finais

A título de informação, destaque-se que, paralelamente aos estudos relacionados aos catetos e às cutias, a equipe do LCGA/UFERSA tem também desenvolvido pesquisas no sentido de implementar TRAs em quatis (*Nasua nasua*; Barros et al., 2009), tatus-peba (*Euphractus sexcinctus*; Sousa et al., 2016), e preás (*Galea spixii*; Silva et al., 2018b), sendo evidente um avanço pontual no desenvolvimento de técnicas para a conservação de gametas e tecidos gonadais das espécies aqui reportadas. Aliado a estas, a tecnologia de embriões, ainda não implementada para estas espécies, abre outra vertente para conservação do germoplasma silvestre, tal qual iniciada em primatas neotropicais brasileiros (Lima et al., 2013b). Ainda, destaca-se a possibilidade de implantação de bancos somáticos com objetivos da clonagem por transferência nuclear, o que já vem sendo desenvolvido tanto para os catetos (Borges et al., 2018), quanto para as cutias (Costa et al., 2015).

Contudo, haja vista a carência de informações detalhadas sobre a fisiologia da maioria dos componentes da fauna nacional, a implementação de TRAs para os mamíferos silvestres do Brasil, de modo geral, tem seguido uma trajetória muito lenta. Além disso, paralelamente ao desenvolvimento de estratégias de conservação do germoplasma, seria também necessário o desenvolvimento de outras biotecnologias, como a inseminação artificial, controle de ovulações, e tecnologia de embriões. Esse fato denota a necessidade de um esforço conjunto de várias equipes de pesquisa na condução de estudos associados e multidisciplinares.

Agradecimentos

A equipe do LCGA/UFERSA agradece: ao Centro de Multiplicação de Animais Silvestres da UFERSA pela concessão dos animais utilizados nos estudos aqui citados; às instituições parceiras nacionais (UECE, UFC, UFERSA, UFF, UFPA, USP) e internacionais (Smithsonian Conservation Biology Institute) que sempre contribuem para o aprimoramento de nossas pesquisas; e a todas as entidades de fomento (CAPES, CNPq, BNB, FAPERN, ICMBio, INSA) que têm financiado nossos estudos.

Referências

- Alves HM, Oliveira IRS, Castelo TS, Lima GL, Souza ALP, Moreira MAP, Paula VV, Silva AR. Comparison of different glycerol and egg yolk concentrations added to tris-based extender for the collared peccaries (*Tayassu tajacu*) semen freezing. *Reprod Domest Anim*, v.48, p.506-511, 2012.
- Barros FFPC, Queiroz JPAF, Filho ACM, Santos EAA, Paula VV, Freitas CIA, Silva AR. Use of two anesthetic combinations for semen collection by electroejaculation from captive coatis (*Nasua nasua*). *Theriogenology*, v.71, p.1261-1266, 2009.
- Bertoldi MR. Regulação internacional do Acesso aos Recursos Genéticos que integram a Biodiversidade. *Rev de Direito Ambiental*, v. 39, p.127-146, 2005.
- Bezerra JAB, Silva AM, Sousa PC, Campos LB, Praxedes ECG, Bezerra LGP, Castelo TS, Souza ALP, Silva AR. Cryopreservation of collared peccary (*Pecari tajacu* L., 1758) epididymal sperm using extenders based on Tris and powdered coconut water (ACP®-116c). *Zygote*, *in press*, 2018.
- Borges AA, Lira GPO, Nascimento LE, Queiroz Neta LB, Santos MVO, Oliveira MF, Silva AR, Pereira AF. Influence of cryopreservation solution on the *in vitro* culture of skin tissues derived from collared peccary (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Biopreserv Biobank*, v.16, p.77-81, 2018.
- Borges, PAC, Lima, GL. Bezerra, JAB, Souza, ALP, Peixoto, GCX, Praxedes, ECG, Silva, AR.



- Cryopreservation of testicular tissue: a potential tool for the conservation of male genetic material from collared peccaries (*Pecari tajacu*). *Anim Reprod*, v.12, p.272, 2015.
- Campos LB, Silva MA, Bezerra JAB, Castelo TS, Peixoto GCX, Silva AR.** Sobrevivência de espermatozoides de catetos (*Pecari tajacu*) após congelação-descongelação no uso de diferentes diluentes. *Acta Sci Vet*, v.42, p.1217, 2014.
- Campos LB, Peixoto GCX, Lima GL, Castelo TS, Souza ALP, Oliveira MF, Silva AR.** Monitoramento do ciclo estral de cutias (*Dasyprocta leporina*, Lichtenstein, 1823) através de citologia esfoliativa vaginal e ultrassonografia. *Pesq Vet Bras*, v.35, p.188-192, 2015.
- Campos LB, Praxedes ECG, Santos CS, Moreira SSJ, Silva AM, Silva AR.** Isolamento enzimático de folículos ovarianos pré-antrais de catetos (*Pecari tajacu*). *Anais do Congresso Renorbio*, v.1, p.83, 2016.
- Castelo TS, Bezerra FSB, Lima GL, Alves HM, Oliveira IRS, Santos EAS, Peixoto GCX, Silva AR.** Effect of centrifugation and sugar supplementation on the semen cryopreservation of captive collared peccaries (*Tayassu tajacu*). *Cryobiology*, v.61, p.275-279, 2010.
- Castelo TS, Silva AM, Bezerra LG, Costa CY, Lago AE, Bezerra JA, Campos LB, Praxedes EC, Silva AR.** Comparison among different cryoprotectants for cryopreservation of epididymal sperm from agouti (*Dasyprocta leporina*). *Cryobiology*, v.71, p.442-447, 2015.
- Castelo TS, Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Campos LB, Oliveira MF, Silva AR.** Interactions among different devices and electrical stimulus on the electroejaculation of captive agoutis (*Dasyprocta leporina*). *Reprod Domest Anim*, v.50, p.492-496, 2016.
- Castelo TS.** Obtenção e conservação de espermatozoides de cutia (*Dasyprocta leporina* Linnaeus, 1753) do semiárido brasileiro. 2015. 128f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.
- Costa CAS, Borges AA, Santos MVO, Queiroz Neta LB, Santos MLT, Franca PHF, Oliveira MF, Silva AR, Pereira AF.** Aplicação da vitrificação para fins de conservação de tecido somático de cutias (*Dasyprocta leporina*). In: Seminário de Iniciação Científica da UFERSA, 21, 2015, Mossoró, RN. Anais... Mossoró: UFERSA, 2015.
- Emmons LH, Feer F.** Neotropical rainforest mammals: a Field Guide. Chicago: University of Chicago Press. 2ª ed. 1997.
- Freitas LA, Souza ALP, Lago AEA, Silva AM, Campos LB, Oliveira MF, Silva AR.** Addition of Equex STM Paste to Tris extender increases the post-thawing longevity of collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758) sperm. *Anim Reprod*, v.14, p.237, 2017
- Gongora J, Reyna-Hurtado R, Beck H, Taber A, Altrichter M, Keuroghlian A.** *Pecari tajacu*. Versão 2013. Disponível em www.iucnredlist.org. Acesso em 05 set. 2018.
- Lima GL, Lima GL, Santos EAA, Luz VB, Silva AR, Rodrigues APR.** Morphological characterization of the ovarian preantral follicle population of collared peccaries (*Tayassu tajacu* Linnaeus, 1758). *Anat Histol Embryol*, v.42, p.304-311, 2013a.
- Lima GL, Luz VB, Lima LF, Rocha RMP, Castro SV, Castelo TS, Rodrigo APR, Figueiredo JR, Silva AR.** Interactions between different media and follicle-stimulating hormone supplementation on in vitro culture of preantral follicles enclosed in ovarian tissue derived from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Reprod Domest Ani*, v.53, p.880-888, 2018.
- Lima JS, Leão DL, Sampaio RV, Brito AB, Santos RR, Miranda MS, Ohashi OM, Domingues SF.** Embryo production by parthenogenetic activation and fertilization of in vitro matured oocytes from *Cebus apella*. *Zygote*, v.21, p.162-6, 2013b.
- Maia KM, Peixoto GCX, Campos LB, Bezerra JAB, Ricarte ARF, Moreira N, Oliveira MF, Silva AR.** Estrus cycle monitoring of captive collared peccaries (*Pecari tajacu*) in semiarid conditions. *Pesq Vet Bras*, v.34, p.1115-1120, 2014a.
- Maia KM, Peixoto GCX, Campos LB, Silva AM, Castelo TS, Ricarte ARF, Silva AR.** Estrous synchronization in captive collared peccaries using a prostaglandin F2 α Analog. *Zoo Sci*, v.31, p.836-839, 2014b.
- Maia KM, Souza ALP, Praxedes ECG, Bezerra LGP, Silva AM, Campos LB, Moreira SSJ, Apolinario CAC, Souza-Junior JBF, Silva AR.** Environmental factors related to a semiarid climate influence the freezability of sperm from collared peccaries (*Pecari tajacu* Linnaeus, 1758). *Biopreserv Biobank*, v.16, p.186-190, 2018.
- Peixoto GCX, Maia KM, Almeida LM, Campos LB, Oliveira GB, Oliveira MF, Brito AB, Domingues SFS, Silva AR.** Indução do estro em cutias (*Dasyprocta leporina*) utilizando-se protocolos à base de prostaglandina isolada ou em associação com análogo de GnRH. *Arq Bras Vet e Zoo*, v.70, p.806-814, 2018.
- Peixoto GCX, Praxedes ECG, Silva AM, Campos LB, Lago AEA, Bezerra LGP, Moreira SSJ, Apolinario CAC, Brito AB, Domingues SFS, Oliveira MF, Silva AR.** Estrous Synchronization Followed by Artificial Insemination in Collared Peccaries (*Pecari tajacu*) - The First Attempt. *Anim Reprod*, v.14, p.147, 2017.
- Praxedes ECG.** Conservação de tecido ovariano de cutias (*Dasyprocta leporina* Lichtenstein, 1823) criadas em cativeiro no semi-árido nordestino. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Rio Grande do Norte, 2017.
- Praxedes ECG, Lima GL, Bezerra LGP, Santos FA, Bezerra MB, Guerreiro DD, Rodrigues APR, Domingues SFS, Silva AR.** Development of fresh and vitrified agouti ovarian tissue after xenografting to ovariectomised severe



combined immunodeficiency (SCID) mice. *Reprod Fert Develop*, v.30, p.459-468, 2018.

Santos EAA, Sousa PC, Martins JAM, Moreira RA, Monteiro-Moreira AC, Oliveira MF, Moura AAA, Silva AR. Protein profile of the seminal plasma of collared peccaries (*Pecari tajacu*). *Reproduction*, p.753-764, 2014.

Silva AR, Moreira SSJ, Souza ANP, Silva AM, Campos LB, Praxedes ECG, Pereira AF, Oliveira MF. Biochemical profile of the Collared Peccaries' seminal plasma obtained during dry period under a semiarid climate. *Anim Reprod*, v.15, p.465, 2018a.

Silva MA, Peixoto GCX, Sousa PC, Bezerra FS, Bezerra AC, Silva AR. Interactions between straw size and thawing rates on the cryopreservation of agouti (*Dasyprocta aguti*) epididymal sperm. *Reprod Domest Ani*, v.47, p.4-6, 2012.

Silva AR, Silva AM, Praxedes ECG, Maia KM, Moreira SSJ, Souza CM, Bezerra LGP, Comizzoli P. Vitrification of collared peccaries' (*Pecari tajacu* linnaeus, 1758) testicular tissue using different cryoprotectants. *Anais do 50th Annual Meeting of the Society for the Study of Reproduction: SSR*, v. 1. p.232, 2017.

Silva AM, Praxedes ECG, Campos LB, Bezerra LGT, Moreira SSJ, Maia KM, Souza ALP, Silva AR. Epididymal sperm from Spix's yellow-toothed cavies sperm successfully cryopreserved in Tris extender with 6% glycerol and 20% egg yolk. *Ani Reprod Sci*, p.64-69, 2018b.

Silva MA, Peixoto GCX, Castelo TS, Lima GL, Silva AM, Oliveira MF, Silva AR. Cryopreservation of collared peccary (*Pecari tajacu*) semen using different freezing curves, straw sizes, and thawing rates. *Cryobiology*, v.67, p.50-55, 2013.

Sousa PC, Santos EAA, Silva AM, Bezerra JAB, Souza ALP, Lima GL, Oliveira MF, Silva AR. Identification of ultrastructural and functional damages in sperm from six-banded armadillos (*Euphractus sexcinctus*) due to cryopreservation. *Pesq Vet Bras*, v.36, p.667-674, 2016.

Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Castelo TS, Oliveira MGC, Paula VV, Silva AR. Sperm characteristics following freezing in extenders supplemented with whole egg yolk and different concentrations of low-density lipoproteins in the collared peccary (*Pecari tajacu*). *Reprod Biol*, v.15, p.223-228, 2015.

Souza ALP, Lima GL, Peixoto GCX, Silva AM, Oliveira MF, Silva AR. Use of Aloe Vera-based extender for chilling and freezing collared peccary (*Pecari tajacu*) semen. *Theriogenology*, v.85, p.1432-1438, 2016.

Wanderley LS, Luz HK, Faustino LR, Lima IM, Lopes CA, Silva AR, Bão SN, Campello CC, Rodrigues AP, Figueiredo JR. Ultrastructural features of agouti (*Dasyprocta aguti*) preantral follicles cryopreserved using dimethyl sulfoxide, ethylene glycol and propanediol. *Theriogenology*, v.77, p.260-267, 2012.
